

BANCO NACIONAL DE LÍNEAS CELULARES (TRONCALES)
National Bank of Stem Cell Lines
IMPRESO DE SOLICITUD DE REGISTRO Y DEPÓSITO DE UNA LÍNEA iPS HUMANA
Application Form to Register and to Deposit a human iPS cell line

FECHA: 11/06/2020

DOCUMENTOS QUE DEBEN ACOMPAÑAR LA SOLICITUD:

Attached documents:

- Copia de la autorización del proyecto en el cual se genera la línea celular, junto con informe favorable del Comité Ético del centro de procedencia.**
A copy of the project authorization in which the cell line is obtained along with a favourable report of the Clinical Research Ethics Committee
- Copia de cualquier publicación científica relacionada con la línea iPS generada.**
A copy of any relevant published scientific papers related to the iPS cell line generated
- C. V. del investigador principal (una página; formato libre).**
A one page CV from the Principal Investigator

SECCIÓN 1-INFORMACIÓN DE LA MUESTRA ORIGINAL Y DE LA iPS GENERADA.

Section 1-Information of the original cell line and the generated iPS

Nombre de la línea iPS <i>Name of the iPS line:</i>	SP11#1
Muestra original donada. Detallar tipo de célula, tejido de origen y localización anatómica de la muestra biológica de la que se obtiene la línea original. Si son células comerciales, detallar nombre, referencia y distribuidor comercial <i>Original sample donated. Detail cell type, tissue of origin and anatomic location of the biological sample from which the original line is obtained. If cells are commercial, detail name, reference and trade distributor.</i>	Queratinocitos de epidermis procedentes de biopsia de piel del brazo <i>Epidermal keratinocytes from skin biopsy of the arm</i>
Sexo y edad del donante. <i>Sex and age of the donor</i>	Mujer 48 años Female 48 years
¿El donante tiene alguna patología? <i>Has the donor any pathological condition?</i>	NO <input checked="" type="checkbox"/> SÍ <input type="checkbox"/> (especificar) No Yes (specify)
¿La patología es de origen genético? <i>Is the pathological condition of genetic origin?</i>	NO <input checked="" type="checkbox"/> SÍ <input type="checkbox"/> (especificar) No Yes (specify)

Muestra biológica recibida <i>Biological sample</i>	Fresco <input checked="" type="checkbox"/> Crioconservado <input type="checkbox"/> <i>Fresh</i> <i>Cryopreserved</i>
Fecha de la donación de la muestra biológica <i>Date of donation of the biological sample</i> Julio 2011/ July 2011	Fecha del uso o descongelación <i>(si congelado)</i> <i>Date used or thawed (if frozen)</i> Julio 2011 July 2011
Condiciones de cultivo de las células de origen (células somáticas/cultivo primario). <i>Culture conditions of the original cells (somatic cells / primary culture)</i>	Medio de cultivo/ Culture media: Serum-free low calcium medium (Epilife, Invitrogen) 37°C- 5%CO2 <i>Sanchez-Danes et al., EMBO Molecular Medicine 2012</i>
Identificación celular: Huella genética por análisis de microsatélites/STR de las células de origen <i>Cell Identity: Genetic fingerprinting by microsatellite analysis / STR of the original cells.</i>	Los marcadores de microsatélites de la muestra inicial de queratinocitos coinciden con los de la línea de iPSc generada (Anexo 5) <i>Microsatellite markers of the initial keratinocytes sample are identical to the markers of the iPSc line (Annex 5)</i>
¿Hay disponibilidad de viales congelados de las células de origen? ¿En qué pase? <i>Is there availability of frozen vials of original cells? At what passage?</i>	Si, p0-p3 <i>Yes, p0-p3</i>
Método utilizado en la generación de la línea iPSc. (Integrativa/ No-integrativa) Especificar factores y plásmidos de reprogramación utilizados. <i>Method used for the generation of iPSc line (Integrative / Non-integrative) Specify factors and plasmids used for reprogramming</i>	Generación de las células pluripotentes inducidas (iPSC) a partir de queratinocitos de piel de un donante sano reprogramados mediante estrategia retroviral con expresión ectópica de 3 factores de transcripción (OCT4, SOX2 y KLF4; 1:1:1) <i>The induced pluripotent stem cells (iPSC) were generated from skin keratinocytes of a healthy donor by the retroviral strategy with ectopic expression of 3 transcription factors (Oct4, Sox2, Klf4; 1:1:1)</i>
Condiciones de cultivo de la línea de iPSc generada. (si se describen en publicación, indicar referencia) <i>iPSc Culture conditions (if they are described in a publication, please indicate the reference)</i>	Support: human foreskin fibroblasts (ATCC, American Type Culture Collection, CCD1122Sk). Culture medium: Knockout Dulbecco's modified Eagle's medium supplemented with 2 mmol/l GlutaMAX (Gibco, Invitrogen corporation), 0,05mmol/l 2-mercaptoethanol (Gibco, Invitrogen corporation), 10 ng/ml basic fibroblast growth factor (bFGF) (Invitrogen), 1% non-essential amino acids (Cambrex), 20% Knockout Serum Replacement (Invitrogen) y 0,5% Penicillin-Streptomycin (Gibco, Invitrogen corporation). Support: Matrigel (Corning BV) Culture medium: mTeSR Basal Medium Kit (StemCell Technologies)
Descripción de las características morfológicas de la línea en cultivo (forma y tamaño colonias; forma y tamaño células; ratio núcleo/citoplasma; otros) <i>Description of the morphological characteristics of the line in culture (form and size of the</i>	Colonias grandes poligonales, ligeramente aplanadas, de un tamaño entre 1- 3 mm de diámetro de diversas formas con bordes lisos. Células de tamaño uniforme y una elevada relación núcleo/citoplasma. <i>Large and flat polygonal colonies, with uniformly sized cells of 1-3 mm of diameter. They have several forms and smooth edges. High nucleus/cytoplasm ratio.</i>

<p>colonies; form and size of the cells; nucleus/cytoplasm ratio; others)</p>	
<p>Criopreservación de la línea celular (Describir método de congelación/descongelación) <i>Cryopreservation of the cell line (Describe freezing / thawing method)</i></p>	<p>La congelación de los clumps de colonias se ha realizado en FBS (90%) + DMSO (10%), mediante contenedor de isopropanol a -80°C (-1°C/min). Los viales se han descongelado a 37°C mediante descongelación rápida. <i>The clumps of colonies were cryopreserved in FBS (90%)+ DMSO (10%), in isopropanol containers at -80°C (-1°C/min). Vials were thawed quickly at 37°C.</i></p>
<p>Pase de la línea celular en el momento del banqueo/registro. (Máximo: Pase 15) <i>Passage at the time of the banking/registration (Max: Passage 15)</i></p>	<p>Viales congelados a varios pases (p8) <i>Frozen vials at passages (p8)</i></p>
<p>¿Ha sido la línea modificada genéticamente? <i>Has the line been genetically modified?</i> Sí Yes <input type="checkbox"/> No No <input checked="" type="checkbox"/> Comentarios/ Comments:</p>	<p>¿Se llevó a cabo un análisis clonal? <i>Has a clonal analysis been carried out?</i> Sí/ Yes <input type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/> Resultado / Result</p>

SECCIÓN 2 RESULTADOS DE LA CARACTERIZACIÓN DE LA LÍNEA iPS.
Adjuntar resultados (imágenes o gráficos) como anexo

Section 2 iPS Cell Line characterization results. Attach results (images and graphics) as an annex

Test de pluripotencia <i>Pluripotency test</i>	Método <i>Method</i>	Nº pase <i>Passage n.</i>	Resultado <i>Results</i>	Comentarios <i>Comments</i>
Anexo 1 <i>Annex 1</i>	Oct 4 inmunocitoq. Nanog inmunocitoq. Sox 2 inmunocitoq. SSEA3 inmunocitoq. SSEA4 inmunocitoq. TRA-1-60 inmunocitoq. TRA-1-81 inmunocitoq. Fosfatasa. Alk actividad	13 13 13 13 13 13 13 13	+ + + + + + +	
Test de diferenciación in vitro <i>In vitro differentiation test</i> Anexo 2 <i>Annex 2</i>	Comentarios Ectodermo <i>Ectoderm</i> Mesodermo <i>Mesoderm</i> Endodermo <i>Endoderm</i>	Método <i>Method</i> Marcador <i>Marker</i> Nº pase <i>Passage n</i>	Resultado <i>Results</i> +/+ +/+ +/+	Comentarios <i>Comments</i>
	Mesodermo: cultivo de cuerpos embrioides (EBs) en medio de cultivo suplementado con ácido ascórbico. Endodermo: cultivo de cuerpos embrioides. Ectodermo: cultivo de cuerpos embrioides en medio N2/B27 (ver Anexo 2). <i>Mesoderm: Embryoid bodies (EBs) cultured in culture medium supplemented with ascorbic acid. Endoderm: EBs culture. Ectoderm: EBs culture in N2/B27 (see Annex 2).</i>			

Test de diferenciación in vivo <i>In vivo differentiation test</i>	<table border="1"> <thead> <tr> <th data-bbox="437 241 603 300">Comentarios</th> <th data-bbox="603 241 735 300">Método</th> <th data-bbox="735 241 884 300">Marcador</th> <th data-bbox="884 241 1032 300">Nº pase</th> <th data-bbox="1032 241 1235 300">Resultado</th> <th data-bbox="1235 241 1375 300"></th> </tr> <tr> <th data-bbox="437 300 603 353"><i>Comments</i></th> <th data-bbox="603 300 735 353"><i>Method</i></th> <th data-bbox="735 300 884 353"><i>Marker</i></th> <th data-bbox="884 300 1032 353"><i>Passage n</i></th> <th data-bbox="1032 300 1235 353"><i>Results</i></th> <th data-bbox="1235 300 1375 353"><i>Comments</i></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td data-bbox="437 353 603 456">Ectodermo <i>Ectoderm</i></td> <td data-bbox="603 353 735 456">inmunohist.</td> <td data-bbox="735 353 884 456">TUJ1/GFAP</td> <td data-bbox="884 353 1032 456">14</td> <td data-bbox="1032 353 1235 456">+/-</td> <td data-bbox="1235 353 1375 456"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="437 456 603 560">Mesodermo <i>Mesoderm</i></td> <td data-bbox="603 456 735 560">inmunohist.</td> <td data-bbox="735 456 884 560">SOX9/CS</td> <td data-bbox="884 456 1032 560">14</td> <td data-bbox="1032 456 1235 560">+/-</td> <td data-bbox="1235 456 1375 560"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="437 560 603 640">Endodermo <i>Endoderm</i></td> <td data-bbox="603 560 735 640">inmunohist.</td> <td data-bbox="735 560 884 640">AFP/FOXA2</td> <td data-bbox="884 560 1032 640">14</td> <td data-bbox="1032 560 1235 640">+/-</td> <td data-bbox="1235 560 1375 640"></td> </tr> </tbody> </table>	Comentarios	Método	Marcador	Nº pase	Resultado		<i>Comments</i>	<i>Method</i>	<i>Marker</i>	<i>Passage n</i>	<i>Results</i>	<i>Comments</i>	Ectodermo <i>Ectoderm</i>	inmunohist.	TUJ1/GFAP	14	+/-		Mesodermo <i>Mesoderm</i>	inmunohist.	SOX9/CS	14	+/-		Endodermo <i>Endoderm</i>	inmunohist.	AFP/FOXA2	14	+/-	
Comentarios	Método	Marcador	Nº pase	Resultado																											
<i>Comments</i>	<i>Method</i>	<i>Marker</i>	<i>Passage n</i>	<i>Results</i>	<i>Comments</i>																										
Ectodermo <i>Ectoderm</i>	inmunohist.	TUJ1/GFAP	14	+/-																											
Mesodermo <i>Mesoderm</i>	inmunohist.	SOX9/CS	14	+/-																											
Endodermo <i>Endoderm</i>	inmunohist.	AFP/FOXA2	14	+/-																											
Descripción de las características de diferenciación <u>in vivo</u> <i>Description of the differentiation characteristics in vivo</i>	<p>Inyección intratesticular en ratones SCID de 4•10 mill de células indiferenciadas y tras 8 semanas, análisis de los teratomas producidos mediante técnicas de inmunohistoquímica para ectodermo, mesodermo y endodermo (Anexo 3).</p> <p><i>4•10 mill of undifferentiated cells were injected into the testis of SCID mice. After 8 weeks, teratomas were analyzed by immunohistochemistry for ectoderm, endoderm and mesoderm (Annex 3).</i></p>																														
Cariotipo (especificar fórmula cariotípica y pase) <i>Karyotype (Specify karyotype formula and passage)</i>	<p>46 XX p8 (Anexo 4/ Annex 4)</p>																														
Identificación celular: Huella genética por análisis de microsatélites/STR de la línea celular <i>Cell Identity: Genetic fingerprinting by microsatellite analysis / STR of the cell line</i>	<p>Los marcadores de microsatélites de la muestra inicial de queratinocitos coinciden con los de la línea de iPS generada (Anexo 5)</p> <p><i>Microsatellite markers of the initial keratinocytes sample are identical to the markers of the iPS line (Annex 5)</i></p>																														
Test de integración (detallar método utilizado según tipo de reprogramación celular) <i>Integration Test (specify method depending on cell reprogramming)</i>	<p>Mediante southern blot (Anexo 6)</p> <p><i>Southern blot (Anexo 6)</i></p>																														

Test de silenciament (detallar mètode utilitzat segons tipus de reprogramació cel·lular) <i>Silencing Test (specify method used depending on cell reprogramming)</i>	<p>La QRT-PCR evidencià els nivells d'expressió de mRNA de marcadors de pluripotència endògena (Anexo 6)</p> <p><i>QRT-PCR showed mRNA expression levels of endogenous pluripotency markers (Annex 6).</i></p>
Confirmació del diagnòstic genotípic en les iPSC generades a partir de mostres amb mutació genètica <i>Confirmation of genotypic diagnosis of the cell line generated from samples with genetic mutation</i>	<p>No procede</p> <p><i>Not required</i></p>
Test de micoplasma <i>Mycoplasma Test</i>	<p>Negatiu per PCR (Anexo 7)</p> <p><i>Negative by PCR (Annex 7)</i></p>

SECCIÓ 3 DATOS DEL DEPOSITANTE

Section 3 Applicant Details

Investigador Principal: <i>Principal Investigator:</i> Angel Raya Chamorro	Direcció Postal: <i>Postal address:</i> Hospital Duran i Reynals. Gran Via de l'Hospitalet 199. 08908. Hospitalet de Llobregat. Barcelona
Centre de Treball: <i>Institution:</i> Programa de Medicina Regenerativa IDIBELL	Teléfono (phone): 93 3160320 Fax: E-mail: araya@idibell.cat

Investigador Principal: <i>Principal Investigator:</i> Eduard Tolosa Sarró	Direcció Postal: <i>Postal address:</i> C/Roselló 149-153 08036 Barcelona
Centre de Treball: <i>Institution:</i> Banc de Teixits Neurològics Biobanc-HCB-IDIBAPS Instiut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS)	Teléfono (phone): 93 227 5400 (ext.2247) Fax: E-mail: ETOLOSA@clinic.cat

SECCIÓN 4 INFORMACIÓN ADICIONAL (OPCIONAL)
Section 4 Additional information (optional)

Otras observaciones o información relevantes (a juicio del Investigador Principal):
Other observations or relevant information (to the discretion of the Principal Investigator):


Otras observaciones o información relevantes (a rellenar por el BNLC):
Other comments or relevant information (to be completed by BNLC)

Seguimiento de la línea (a rellenar por el BNLC):
Follow up of the line (to be completed by BNLC)

SECCIÓN 5 DECLARACIÓN

Confirmo que la información contenida en estos impresos es cierta y asumo total responsabilidad sobre la misma.

I confirm that the information contained in this form is true and I assume total responsibility for it.

<p>Firma en Representación del Centro / Signature in Representation of the Centre (Representante legal del Departamento/Centro) (Legal Representative of the Department/Centre)</p> <p>CAPELLA MUNAR GABRIEL MARIA - 46114965B</p> <p><small>Firmado digitalmente por CAPELLA MUNAR GABRIEL MARIA - 46114965B Nombre de reconocimiento (DN): c=ES, serialNumber=IDCES-46114965B, givenName=GABRIEL MARIA, sn=CAPELLA MUNAR, cn=CAPELLA MUNAR GABRIEL MARIA - 46114965B Fecha: 2020.06.16 10:49:32 +02'00'</small></p> <p>Fecha/Date: 15/06/2020</p>	<p>Firma del Investigador Principal <i>Signature of the Principal Investigator</i></p> <p>RAYA CHAMORRO ANGEL - 29157851S</p> <p><small>Digitally signed by RAYA CHAMORRO ANGEL - 29157851S Date: 2020.06.16 10:18:57 +02'00'</small></p> <p>Fecha/Date: 15/06/2020</p>
<p>Nombre y Cargo de la Persona Representante del Centro: <i>Name and Position of the Person Representing the Centre:</i></p> <p>Gabriel Capellá. Director</p>	
<p>Dirección Postal: <i>Postal Address:</i></p> <p>IDIBELL Gran Via de l'Hospitalet 199. 08908 L'Hospitalet de Llobregat. Barcelona</p>	<p>Teléfono /Telephone: 93 2607291</p> <p>Fax:</p> <p>E-mail: gcapella@idibell.cat</p>
<p>Firma en Representación del Centro / Signature in Representation of the Centre (Representante legal del Departamento/Centro) <i>Legal Representative of the Department/Centre</i></p> <p>40287781S Firmado digitalmente por ROSA VILAVELLA (R: Q5856414G) 17 15 41 +02 00'</p> <p>40908557K Firmado digitalmente por ELIAS GABRIEL CAMPO (R: Q5856414G) 17 18 51 +02 00'</p> <p>Fecha/Date: 15.6.20</p>	<p>Firma del Investigador Principal <i>Signature of the Principal Investigator</i></p>  <p>Fecha /Date: 15.6.20</p>
<p>Nombre y Cargo de la Persona Representante del Centro: <i>Name and Position of the Person Representing the Centre:</i></p> <p>Dr. Elias Campo (Director) Ms. Rosa Vilavella (Manager)</p>	
<p>Dirección Postal: <i>Postal Address:</i></p> <p>C/ Roselló 149-153 Barcelona 08036</p>	<p>Teléfono /Telephone: +34 93 2279165</p> <p>Fax:</p> <p>E-mail: ktt@idibaps.org</p>